تاثیر داروی "رها" و بربرین در دوزهای سمی و غیرسمی درکاهش علائم سندرم ترک مرفین در موش سوری

مقاله پژوهشی

زیبا لیاقت[1]، فائقه بهاءالدین بیگی[2]، محمدجواد خشنود[3]، مجتبی لیاقت[4]

۱. داروساز
۲. استادیار فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز
۳. استادیار سم‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز، دانشکده داروسازی
۴. دامپزشک

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۷/۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۴/۳

چکیده

زمینه و هدف: سندرم ترک به مجموعه علایمی اطلاق می‌شود که با قطع یک‌باره یا تدریجی مصرف مواد مخدر بعد از استفاده طولانی مدت آن، در فرد معتاد ایجاد می‌شود. این مطالعه با هدف تعیین اثر داروی رها و بربرین در دوزهای سمی و غیرسمی در مقایسه با داروی کلونیدین برکاهش علائم سندرم ترک مرفین در موش سوری انجام گردیده است.

مواد و روش‌کار: برای انجام این تحقیق ۱۴۰ سر موش نر سوری، نژاد Balb/c با سن تقریبی دو ماه و در محدوده وزنی ۹۰-۷۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت، موش‌ها به‌طور تصادفی به دو دسته تقسیم شدند: دسته اول n=۳۵ (گروه دریافت کننده دارو n=۲۱ و گروه کنترل n=۱۴) و دسته دوم n=۱۰۵ (گروه دریافت کننده دارو n=۹۱ وگروه کنترل n=۱۴). در تمامی گروه‌ها با تزریق دوزهای فزاینده مرفین وابستگی فیزیکی ایجاد شد و سپس با تزریق نالوکسان علائم سندرم ترک ایجاد گردید؛ آن‌گاه آثار فارماکولوژیک داروی رها، بربرین و کلونیدین بر رفتار موش‌های سوری بررسی گردید و هم‌چنین میزان آلکالوئیدهای تام و بربرین موجود در داروی رها نیز مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین آلکالوئیدهای تام و بربرین در داروی رها به‌ترتیب ۱۲۰ و ۵/۷۲ میلی‌گرم در پنج میلی‌لیتر به‌دست آمد. درجه الکلی داروی رها طبق روش استاندارد ۱۹/۳۴ درصد به‌دست آمد. دوز سمیت حاد برای داروی رها ۴ml/kg و برای بربرین ۴۰mg/kg مشخص گردید. در مجموع در مورد داروی رها افزایش درصد وقوع رفتار سنگینی پلک و بی‌حرکتی درمقایسه با گروه کنترل (آب مقطر) معنی‌دار بود (p=۰/۰۱۶). هم‌چنین داروی رها و بربرین بر روی درصد وقوع رفتارهای بوکشیدن مداوم، تمیزکردن بدن و ایستادن روی دو پا طی ۱۵ دقیقه، تفاوت معنی‌داری نداشتند (p=۰/۰۸۹).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که داروی رها و بربرین تا نزدیک دوز سمی درکاهش علائم سندرم ترک مرفین اثری ندارد. بنابراین مصرف این دارو در انسان، با توجه به عدم تاثیر آن در موش سوری نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد. **[م ت ع پ ز، ۱۲(۳):۱۸-۱۲]**

کلیدواژه‌ها: سندرم ترک، مرفین، رها، بربرین، کلونیدین

مقدمه

به‌طورکلی وابستگی به دارو یک حالت روانی و گاهی جسمانی، ناشی از اثر متقابل ارگانیسم زنده و دارو است.[1] وابستگی روانی حالتی است که دارو باعث احساس ارضاء یک اجبار روانی می‌شود. در وابستگی جسمانی مصرف مکرر یک دارو حالت فیزیولوژیکی بدن را تغییر می‌دهد، به‌طوری که مصرف دارو برای جلوگیری از ظهور یک سندرم خاص، ضروری می‌باشد[2] و قطع دارو سبب بروز ناراحتی‌های شدید جسمی می‌گردد که مجموعه این ناراحتی‌ها را سندرم ترک می‌نامند.[3,4] ترکیب دارویی رها که یک محلول گیاهی خوراکی حاوی عصاره هیدروالکلی برخی گیاهان دارویی می‌باشد، جهت ترک اعتیاد به مواد مخدر به بازار دارویی عرضه شده است. بیشترین اثر بخشی این دارو به بربرین که یکی از آلکالوئیدهای موجود در گیاه زرشک است،[5] نسبت داده می‌شود. گیاه زرشک یا Berberis Vulgaris L درختچه‌ای است که ماده موثره موجود در آن از قسمت‌های مختلف گیاه مثل پوست، ریشه، ریزوم، ساقه و میوه آن به‌دست می‌آید؛ بربرین ماده‌ای آلکالوئیدی است که طعمی بسیار تلخ دارد. این ماده به میزان زیادی در آب گرم و الکل حل می‌شود.[4] تتراهیدروپالمیتین یکی از آلکالوئیدهای موجود در زرشک و جزو دسته ایزوکینولین‌هاست. Leung و همکارانش نشان دادند که این ترکیب در دوزهای کم (۰/۵-۱۰mg/kg) به‌صورت خوراکی دارای خاصیت ضد اضطراب می‌باشد.[6] شبرنگ با بررسی اثرات عصاره ریشه گیاه زرشک در موش سوری آن را در بهبود سندرم ترک مرفین موثر دانست.[7] هدف از این مطالعه بررسی تاثیر داروی رها و ترکیب بربرین در دوزهای سمی و غیرسمی در مقایسه با داروی کلونیدین (داروی غیر مخدری که جهت کاهش علایم سندرم ترک مرفین، در انسان مصرف می‌شود) جهت کاهش علائم سندرم ترک مرفین در موش‌های آزمایشگاهی می‌باشد.

روش کار

در محلول رها، (طبق بروشور دارو) عصاره هیدروالکلی گیاهان مختلفی به‌کار رفته است. ۴۲ درصد زرشک، ۲۰ درصد سنبل الطیب، ۲۰ درصد بابونه، ۱۰ درصد بید، ۵ درصد اسفند و ۳ درصد مواد کمک گیاهی. ابتدا

۱۲ آدرس نویسنده مسئول: شیراز ،کیان شهر،کدپستی۳۵۸۹۳-۷۱۵۵۶
Email: mliaghat6@gmail.com

www.SID.ir

برای تعیین مقدار بربرین موجود در داروی رها، ۲۵ میکرولیتر از محلول خوراکی رها روی صفحه TLC (Thin layer chromatography) قرار داده شد. طبق روش Hartmann و همکاران محلول‌ها صاف و آماده‌سازی شد[۸] و ارزشRf (Retardation factor) محاسبه شد. برای رسم منحنی استاندارد جذب، بربرین هر محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۲۸ نانومتر خوانده شد. از محلول بربرین استاندارد (Sigma Aldrich, USA) غلظت ۰/۰۱mg/ml تهیه گردید. ۲۵ میکرولیتر از آن روی صفحه TLC قرار داده شد. ارزش Rf زیر نور UV مشخص شد و سپس قسمت‌های حاوی بربرین تراشیده شد و در ۲ میلی‌لیتر الکل ۹۶ درصد حل شد. طبق روش مورد استفاده در مطالعه Chan[۹] از محلول صاف شده، اقدام به تهیه سری رقت شد و جذب آن‌ها در طول موج ۲۲۸ نانومتر خوانده شد. در کنار محلول رها، بربرین استاندارد نیز کاشته شد. با رسم منحنی استاندارد جذب نوری بربرین کاشته شده روی صفحه TLC، غلظت بربرین موجود در رها به عنوان مجهول محاسبه گردید.

برای تعیین مقدار بربرین موجود در داروی رها، محلول بربرین با غلظت محلول حاصل ۱۰μg/ml تهیه شد و از آن اقدام به تهیه سری رقت شد. جذب نوری محلول‌های حاصل در طول موج ۲۲۸ nm خوانده شد. با رسم منحنی استاندارد جذب نوری بربرین، بدون کاشتن بر روی صفحه TLC، غلظت بربرین کاشته شده محاسبه شد. برای استخراج آلکالوئیدهای تام از داروی رها،۶۰ میلی‌لیتر از داروی رها با استفاده از دستگاه روتاری در حرارت ۴۰°C تغلیظ گردید. سپس در ۲۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک۱۰ درصد (Merck, Germany) حل شد. مایع باقی‌مانده به‌وسیله کاغذ صافی صاف شد. رسوب روی صافی حاوی بربرین بود (رسوب I). به محلول زیر صافی هیدروکسیدآمونیوم اضافه گردید تا pH آن به ۱۰-۸ برسد. چهار نوبت هر بار ۲۵ میلی‌لیتر اتر به آن اضافه گردید و در قیف جداکننده مورد جداسازی قرار گرفت. فاز اتری پس از خشک شدن، وزن شد. سپس فاز زیرین غیر اتری با ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم چهار بار مورد جداسازی قرار گرفت. رسوب آلکالوئیدهای محلول در کلروفرم نیز با خشک کردن کلروفرم آن وزن شد. pH لایه غیر کلروفرمی به حدود ۱ و ۲ رسانده شد. محلول مربوط به هرکدام از این pHها سه قسمت شد. به یک قسمت نمک زده، به قسمت دیگر معرف میر و قسمت سوم بدون نمک نگه داشته شد. رسوب حاصله جدا و خشک شد.[۷] در نهایت مجموع وزن رسوبات خشک شده حاصل از تمامی فازها همراه با رسوبI، توزین و مجموع آن محاسبه گردید. جهت تعیین درجه الکلی داروی رها طبق روش فارماکوپه USP، ۵۰ میلی‌لیتر داروی رها با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه کلرورسدیم اضافه شد تا اشباع گردد. سپس سه بار در قیف جداکننده با ۲۵ میلی‌لیتر هگزان به‌هم زده شد. لایه‌ی بالایی که حاوی الکل و هگزان است جدا شد و مجدداً سه بار با۱۰ میلی‌لیتر محلول سدیم کلراید اشباع، در قیف جداکننده مخلوط شد و لایه زیرین که حاوی الکل و آب نمک بود جداسازی گردید. این لایه‌ها به یکدیگر اضافه شدند و مورد تقطیر قرار گرفتند.[۹] در این مطالعه از ۱۴۰ سر موش سوری نر نژاد Balb/c، دو ماهه در محدوده وزنی۹۰-۷۰ گرم، استفاده گردید که به دو دسته تقسیم شدند: دسته اول (n=۳۵) در قالب ۵ گروه هفت سری (دریافت کننده دارو n=۲۱ و کنترلn=۱۴) و دسته دوم (n=۱۰۵) در قالب ۱۵ گروه هفت سری (دریافت کننده داروn=۹۱ و کنترلn=۱۴) تقسیم‌بندی شدند و در شرایط دمایی ۲۵°C-۲۲ و ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. خوراک آن‌ها به‌صورت قطعات Oxoid Pellet (حاوی جو، گندم، ذرت) بود. برای ایجاد وابستگی در حیوان از روش تزریق داخل صفاقی دوزهای افزایشی سولفات مرفین (ایران دارو) سه بار در روز برای مدت سه روز به تمامی گروه‌های موش‌های سوری تجویز گردید.[۱۰] ساعات تزریق سولفات مرفین ۸ و ۱۰/۵ صبح و ۲/۵ بعدازظهر بود. روز اول، دو دوز ۲۵mg/kg و یک دوز ۵۰mg/kg، روز دوم، دو دوز ۵۰mg/kg و یک دوز ۷۵mg/kg، روز سوم دو دوز ۷۵mg/kg و یک دوز ۱۲۵mg/kg و روز چهارم یک دوز۱۵۰ mg/kg تزریق شد.[۷] جهت ایجاد سندرم ترک ناگهانی به‌عنوان معیار نشان‌دهنده وابستگی فیزیکی به مرفین از تزریق نالوکسان هیدروکلراید (تولید دارو) استفاده شد.

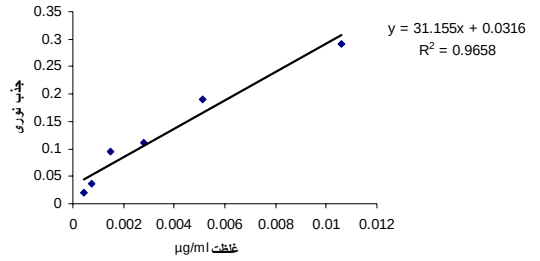
کلیه موش‌ها به دو دسته تقسیم شدند: دسته اول متشکل از پنج گروه هفت سری موش که دو ساعت بعد از تزریق آخرین دوز مرفین، به‌صورت انفرادی در یک بشر بزرگ به مدت پنج دقیقه قرار داده شدند، تا با محیط جدید سازش یابند. سپس از طریق داخل صفاقی ۴mg/kg نالوکسان هیدورکلراید تزریق شد. آن‌گاه گروه کنترل۱: ۲ml/kg آب مقطر، گروه کنترل۲: ۲ml/kg الکل ۴۰ درصد، گروه بربرین: ۲۰mg/kg ترکیب بربرین، گروه رها: ۲ml/kg داروی رها و گروه کلونیدین: ۰/۴mg/kg داروی کلونیدین دریافت کردند؛ سپس رفتارهای حیوانات شامل بوکشیدن مداوم، روی هم افتادن پلک، تمیز کردن، بی‌حرکتی و ایستادن روی پا، در مدت ۱۵ دقیقه پس از تزریق نالوکسان مشاهده و ثبت گردید. تعداد و شدت علایم فوق در طول هر پنج دقیقه جداگانه ثبت می‌شد. دسته دوم موش‌ها به‌طور تصادفی به ۱۵ گروه هفت سری (n=۱۰۵) تقسیم شدند، آن‌گاه دو ساعت بعد از تزریق آخرین دوز مرفین، به‌صورت انفرادی در یک بشر بزرگ به مدت پنج دقیقه قرار داده شدند تا با محیط جدید سازش یابند. سپس ۴mg/kg نالوکسان هیدورکلراید از طریق داخل صفاقی تزریق شد. آن‌گاه آثار فارماکولوژیکی بربرین، داروی رها، آب مقطر، الکل۴۰ درصد و کلونیدین، به شرح ذیل مورد بررسی قرار گرفت. گروه یک به‌عنوان کنترل بربرین، ۲ml/kg الکل ۴۰ درصد و ۴mg/kg نالوکسان دریافت کرد. گروه دوم به‌عنوان کنترل رها، آب مقطر و نالوکسان دریافت نمود. گروه‌های سوم تا هفتم، داروی رها را با رقت‌های مختلف ۱/۵، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و داروی رقیق نشده همراه با نالوکسان، گروه‌های هشتم تا دوازدهم، بربرین را با دوزهای ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن به همراه نالوکسان و گروه سیزدهم ۰/۴mg/kg کلونیدین و نالوکسان به روش داخل صفاقی دریافت کردند.[۱۱] سپس اثرات داروی رها و بربرین، طی۳۰ دقیقه و کلونیدین ۴۰ دقیقه پس از تزریق بررسی گردید. موش‌ها به‌صورت انفرادی داخل بشرهای شیشه‌ای قرار گرفتند و پس از گذشت زمان ذکر شده برای هر دارو، کورنومتر به‌کار انداخته شد و موش‌ها از نظر تعداد پرش مورد بررسی قرار

Archive of SID
www.SID.ir

گرفتند. پریدن حیوان به طرف لبه بشر به‌عنوان یک پرش ثبت و میانگین داده‌های مربوط به تعداد پرش‌ها در هر پنج دقیقه محاسبه گردید. این علایم به مدت ۱۵دقیقه (در فواصل پنج دقیقه‌ای) بررسی گردید. هرکدام از گروه‌ها برای مدت یک هفته پس از ثبت علایم به‌منظور بررسی آثار سمی داروها تحت نظر قرار گرفت.[۱۲] در ادامه کار، سمیت حاد داروهای رها و بربرین در گروه‌های چهاردهم و پانزدهم نیز به‌طور جداگانه بررسی شد، در دو گروه هفت سری دوز ۴۰mg/kg بربرین و ۴ml/kg از داروی رها بدون رقیق کردن (دو برابر دوز حداکثر) به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. تعداد مرگ ومیر در هر گروه به مدت یک هفته ثبت گردید. اختلاف بین گروه‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون‌های LSD و Dunnettتعیین شد. اختلاف داده‌های مربوط به شدت سنگینی پلک بین گروه‌ها با آنالیز واریانس غیر پارامتریک کروسکال والیس و آزمون من ویتنی یو و χ^2 با سطح معنی‌دار $p<۰/۰۵$ تعیین شد.

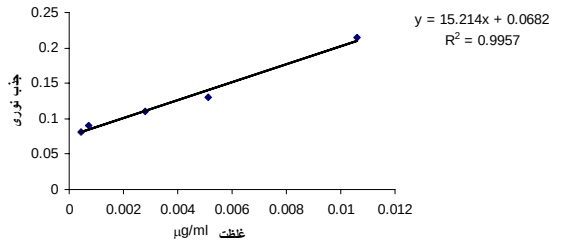
یافته‌ها

بربرین استخراج شده از داروی رها و بربرین استاندارد کاشته شده بر روی TLC در زیر نور UV، فلورسانس زرد رنگ و Rf=۰/۰۹ داشتند که حاکی از یکسان بودن آن‌ها است. میانگین غلظت‌های بربرین محاسبه شده پس از احتساب درصد بازدهی روش TLC، ۵/۷۲mg در پنج میلی‌لیتر داروی رها بود (نمودار۱).



نمودار۱: منحنی جذب نوری بربرین پس از کاشتن برروی صفحه TLC جهت تعیین مقدار بربرین در داروی رها(طول موج۲۲۸ نانومتر)

غلظت‌های بربرین استاندارد کاشته شده روی صفحه TLC از معادله خط محاسبه شد. درصد بازدهی روش TLC به‌کار رفته در استخراج بربرین از داروی رها برابر با ۱۴۶درصد به‌دست آمد (نمودار ۲).



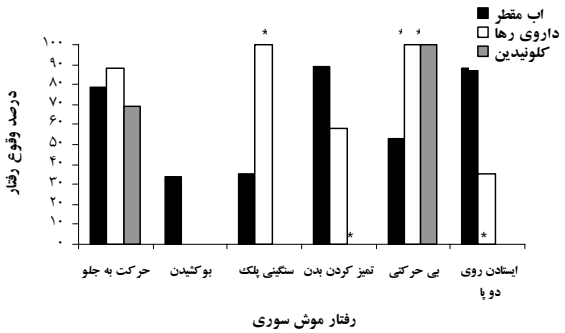
نمودار۲: منحنی جذب نوری بربرین بدون کاشتن برروی صفحه TLC جهت تعیین درصد بازدهی روشTLC (طول موج۲۲۸ نانومتر)

مقدار آلکالوئیدهای تام داروی رها، ۲ mg ۱۲۰± در پنج میلی‌لیتر داروی رها به‌دست آمد. قبل از اندازه‌گیری درجه الکلی دانسیته وpH مشخص شد که میزان و میانگین هرکدام در جدول ۱ قید شده است. میانگین، درجه الکلی داروی رها حاصل از سه بار تکرار، ۱۹/۳ بود.

جدول۱: نتایج حاصل از تعیین درجه الکلی داروی رها (حاصل از سه بارتکرار آزمایش

شماره نمونه	دانسیته نمونه g/cm^3	pHنمونه	درجه الکلی نمونه
نمونه اول	۰/۹۱۲	۵/۴۷	۲۰
نمونه دوم	۰/۹۱۵	۵/۴۶	۲۰
نمونه سوم	۰/۹۱۶	۵/۴۷	۱۸
میانگین	۰/۹۱۴	۵/۴۶	۱۹/۳۴

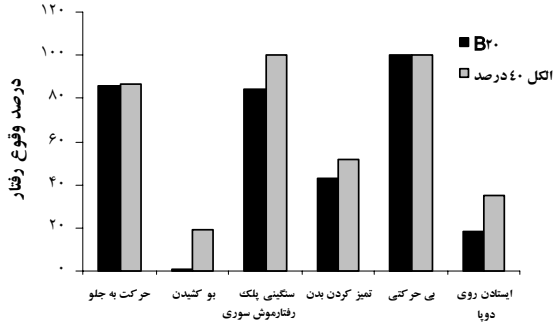
در حیواناتی که داروی رها دریافت کرده بودند نسبت به گروه آب مقطر درصد رفتار سنگینی پلک و رفتار بی‌حرکتی افزایش یافت. که از این بین افزایش درصد وقوع رفتار سنگینی پلک و رفتار بی‌حرکتی در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود(p=۰/۰۱۶). هم‌چنین درصد وقوع رفتارهای بوکشیدن مداوم به صفر درصد، تمیز کردن بدن به ۵۷ درصد، ایستادن روی دو پا به ۲۹درصد در این گروه کاهش یافت ولی تفاوت آن با گروه کنترل معنی‌دار نبود(نمودار۳). در گروه دریافت کننده کلونیدین درصد وقوع رفتارهای تمیز کردن بدن و ایستادن روی دو پا به صفر درصد کاهش یافت که تفاوت این گروه‌ها با گروه کنترل معنی‌دار بود (p=۰/۰۱۱). هم‌چنین درصد وقوع رفتار بی‌حرکتی افزایش نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود (p=۰/۰۱۶). ولی در مورد سایر رفتارها تفاوت معنی‌دار نبود (نمودار۳).



نمودار ۳: اثرات داروی رها روی رفتارهای حیوان طی پانزده دقیقه
***: اختلاف معنی دار با آب (p<۰/۰۵)**

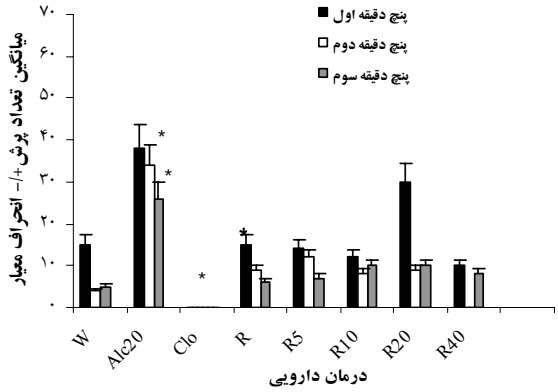
در حیواناتی که ۲۰mg/kg بربرین دریافت کرده بودند، درصد وقوع هیچ کدام از رفتارها تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه الکل ۴۰ درصد نداشت (نمودار ۴). رفتار حرکت سر و چرخیدن به دور خود در هیچ‌کدام از حیوانات در گروه‌های مختلف مشاهده نشد. در گروه کنترل تزریق نالوکسان در موش‌های وابسته شده به مرفین باعث ایجاد رفتار پرش شد. میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول ۲/۹±۱۵/۴ بود. الکل ۲۰ درصد که در داروی رها وجود دارد، باعث افزایش میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول، دوم و سوم

www.SID.ir



نمودار ۴: اثرات بربرین روی رفتارهای حیوان طی پانزده دقیقه

نسبت به گروه کنترل شد. این افزایش در پنج دقیقه دوم و سوم به حد معنی‌دار رسید (p=۰/۰۱۷). کلونیدین به‌عنوان داروی استاندارد کاهش‌دهنده پرش ناشی از نالوکسان در حیوانات وابسته به مرفین باعث قطع رفتار پرش شد و تفاوت میانگین تعداد پرش در این گروه نسبت به گروه کنترل در پنج دقیقه اول معنی‌دار بود (p=۰/۰۱۱، نمودار۵).

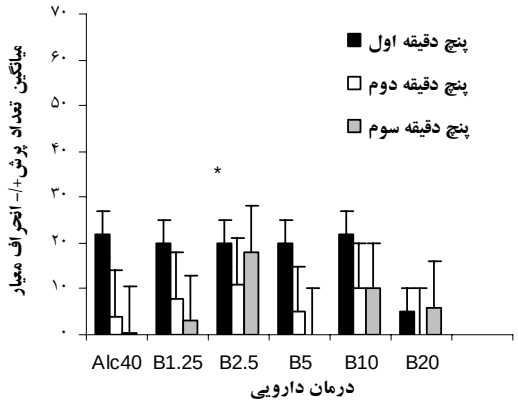


نمودار ۵: میانگین تعداد پرش براساس تیمار انجام شده.
W: آب مقطر، $Alc_{۲۰}$: الکل ۲۰ درصد، Clo: کلونیدین، R: رها بدون رقیق شدن، R_5:داروی رها رقیق شده به نسبت ۱به ۵، $R_{۱۰}$: داروی رها رقیق شده به نسبت ۱به ۱۰، $R_{۲۰}$:داروی رها رقیق شده به نسبت ۱ به ۲۰، $R_{۴۰}$:داروی رها رقیق شده به نسبت ۱ به ۴۰، *: اختلاف معنی‌دار با آب (p<۰/۰۵)، *: اختلاف معنی‌دار با الکل (p<۰/۰۵)

نتایج حاصل از بررسی رقت‌های مختلف داروی رها R_5 (رها ۱/۵)، $R_{۱۰}$ (رها ۱/۱۰) ، $R_{۲۰}$ (رها۱/۲۰)، $R_{۴۰}$ (رها۱/۴۰) با گروه کنترل یعنی با آب مقطر وگروه R (رها بدون رقیق شدن) نیز با گروه کنترل (الکل ۲۰درصد) مقایسه شد. نتایج تست آماری، تفاوت معنی‌داری بین میانگین تعداد پرش درگروه‌های دریافت کننده رقت‌های مختلف رها نشان داد (p=۰/۰۱۲). در مورد R_5 در پنج دقیقه دوم و سوم میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که به حد معنی‌دار نرسید. در مورد $R_{۱۰}$ میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول نسبت به گروه کنترل کاهش اندک داشت که به حد معنی‌دار نرسید. در پنج دقیقه دوم و سوم میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که به حد معنی‌دار نرسید. در مورد $R_{۲۰}$ در پنج دقیقه اول، دوم و سوم میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که به حد معنی‌دار نرسید.

در مورد $R_{۴۰}$ میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول و دوم نسبت به گروه کنترل کاهش و در پنج دقیقه سوم افزایش یافت منتهی هیچ‌کدام به حد معنی‌دار نرسید (نمودار ۵). در رقت R (داروی رها بدون رقیق شدن) در پنج دقیقه اول، دوم و سوم نسبت به گروه میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل کاهش یافت که این کاهش تنها در پنج دقیقه دوم به حد معنی‌دار رسید (p=۰/۰۱۱، نمودار۵). اختلاف میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه دوم بین آب مقطر و $Alc_{۲۰}$ معنی‌دار بود (p=۰/۰۱۳) اما بین داروی R_5 و آب مقطر معنی‌دار نبود (p=۰/۰۸۹).

نتایج حاصل از بررسی بربرین بر علایم سندرم ترک مرفین با انجام تست آماری تفاوت معنی‌داری بین میانگین تعداد پرش در گروه‌های دریافت کننده غلظت‌های مختلف بربرین را نشان داد (p=۰/۰۱۱). در گروه کنترل $Alc_{۴۰}$ تزریق نالوکسان در موش‌های وابسته شده به مرفین باعث ایجاد رفتار پرش شد. میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول۶±۲۲/۹ بود. غلظت ۱/۲۵mg/kg بربرین میانگین تعداد پرش را در پنج دقیقه اول نسبت به گروه کنترل کاهش داد که به حد معنی‌دار نرسید. در پنج دقیقه دوم و سوم میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که آن هم به حد معنی‌دار نرسید. غلظت ۲/۵mg/kg ($B_{۲/۵}$) بربرین در پنج دقیقه سوم تعداد پرش را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش داد (p=۰/۰۱۲)، (نمودار۶).



نمودار ۶: میانگین تعداد پرش براساس میزان رقت‌های مختلف بربرین در الکل ۹۶ درصد.
$B_{۱/۲۵}$: بربرین ۱/۲۵mg/kg، $B_{۲/۵}$: بربرین ۲/۵mg/kg، B_5: بربرین ۵mg/kg، $B_{۱۰}$ بربرین ۱۰mg/kg، $B_{۲۰}$ بربرین ۲۰mg/kg، $Alc_{۴۰}$: الکل ۴۰ درصد، *: اختلاف معنی‌دار با الکل (p<۰/۰۵)

در بربرین ۵mg/kg، میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول، دوم و سوم نسبت به گروه کنترل تفاوت چندانی نداشت. در غلظت‌های ۲۰mg/kg و ۱۰mg/kg بربرین میانگین تعداد پرش‌ها در هیچ‌کدام از مقاطع زمانی نسبت

www.SID.ir

به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نشان نداد (نمودار۶). در مورد شدت سنگینی پلک ناشی از نالوکسان، برای هر گروه در مورد داروی رها و بربرین تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در بررسی اثرات داروی رها روی رفتارهای حیوان، داروی رها درصد وقوع رفتار حرکت به جلو، سنگینی پلک و رفتار بی‌حرکتی را طی پانزده دقیقه افزایش داد که از میان این‌ها تنها افزایش درصد وقوع رفتار سنگینی پلک و بی‌حرکتی در مقایسه با گروه کنترل (آب مقطر) به حد معنی‌دار رسید (p=۰/۰۱۶). سمیت حاد داروی رها و بربرین با تزریق داخل صفاقی دوز ۴۰mg/kg بربرین که دو برابر دوز حداکثر مورد استفاده در آزمایشات سندرم ترک مرفین بود، ایجاد شد. ۲۰ دقیقه پس از تزریق این دارو تمامی هفت حیوانی که این دوز بربرین را دریافت کردند مردند. دوز ۴ml/kg از رهای رقیق نشده (R) که حداکثر دوز مورد استفاده در آزمایشات سندرم ترک مرفین بود، سمیت حاد نشان داد. سه روز پس از تجویز دارو پنج حیوان از هفت حیوان تلف شدند. با توجه به آزمایشات صورت گرفته، مقدار بربرین در داروی رها با احتساب درصد بازدهی به میزان ۵/۷۲mg در هر پنج میلی‌لیتر دارو به‌دست آمد که کمتر از میزان ذکر شده در بروشور دارو (۶/۵–۷/۲mg) بود. تجویز بربرین استاندارد در دوزهای مختلف تا نزدیک دوز سمیت حاد (۴۰mg/kg) اثر چندانی بر کاهش علائم سندرم ترک ندارد و درصد وقوع رفتارهای بوکشیدن مداوم، تمیز کردن بدن و ایستادن روی دو پا را طی ۱۵ دقیقه، تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت (p=۰/۰۸۹) و در مقایسه با گروه دریافت کننده کلونیدین درصد وقوع رفتار بی‌حرکتی افزایش و در مقابل رفتارهای بو کشیدن مداوم، تمیز کردن بدن و ایستادن روی دو پا کاهش معنی‌دار نشان داد (p=۰/۰۱۱).

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که داروی رها در هیچ کدام از رقت‌ها میانگین تعداد پرش را نسبت به گروه کنترل کاهش نداد. هم‌چنین داروی رها نتوانست میانگین تعداد پرش ناشی از نالوکسان را در موش‌های وابسته به مرفین به حالت طبیعی کاهش دهد بلکه یافته‌ها نشان داد، تعداد پرش‌ها به‌طور غیرطبیعی افزایش می‌یابد. به‌طور کلی باید گفت داروی رها تا نزدیک به دو برابر مقدار حداکثر در کاهش سندرم ترک غیر موثر و سمی بود و باعث مرگ حیوانات شد. در این حال کلونیدین به‌عنوان داروی استاندارد، میانگین تعداد پرش را در حد معنی‌داری کاهش داد.

در مطالعات شبرنگ میزان اثربخشی گیاه زرشک در کاهش سندرم ترک مرفین به بربرین موجود در این گیاه نسبت داده شده است.[۷] اما مطالعه حاضر نشان داد که دوزهای مختلف بربرین استاندارد تا نزدیک دوز سمی، اثری برروی کاهش علائم سندرم ترک مرفین ندارد و احتمالا ترکیب دیگری از این گیاه دارای تاثیر برروی علائم سندرم ترک می‌باشد. داروی کلونیدین نیز به‌عنوان داروی استاندارد و به‌عنوان محرک رسپتورهای α_2 مرکزی عمل می‌کند و منجر به مهار پیش سیناپسی نورون‌های آدرنرژیک گردیده و با کاهش نوراپی‌نفرین علائم سندرم ترک را بهبود می‌بخشد[۷] یافته‌های این مطالعه نشان داد که داروی رها در مقایسه با این دارو هیچ تاثیری بر کاهش علائم سندرم ترک ندارد. هم‌چنین باید عنوان نمود که به‌دلیل وجود الکل ۲۰ درصد در ترکیب این دارو افزایش میانگین تعداد پرش‌ها در موش سوری مشاهده گردید و در واقع الکل درکاهش علایم سندرم ترک توسط دارو اختلال ایجاد می‌نماید. قاعدتا داروی رها می‌بایستی در جهت رفع علائم سندرم ترک مرفین موثر می‌بود و رفتارهای طبیعی بدن چون تعداد پرش‌ها، تمیز کردن و بوکشیدن را به حالت طبیعی برمی‌گرداند اما این‌گونه عمل نکرد. ترکیب بربرین موجود در داروی رها یک مهارکننده مونوآمین اکسیداز ۱ می‌باشد (MAOI) و مانع از تجزیه مونوآمین‌ها مثل تیرامین در دستگاه گوارش می‌شود[۸] و از آن‌جا که جذب تیرامین سبب افزایش بیشتر میزان کاتکول‌آمین‌ها می‌گردد و بیمار را به مقلدهای سمپاتیک غیرمستقیم مثل تیرامین که در بسیاری از نوشابه‌ها و غذاهای تخمیر شده یافت می‌شود، حساس می‌سازند و می‌تواند به اورژانس‌های افزایش فشارخون بیانجامد.[۱۲] بنابراین مصرف بربرین با غذاهای حاوی تیرامین منع مصرف دارد، که متاسفانه در بروشور دارو اصلا به آن اشاره نشده است. هم‌چنین گیاه بید که در ترکیب داروی رها به‌کار رفته است، دارای عوارضی نظیر آشفتگی، اسهال، خونریزی معده، طنین در گوش و استفراغ می‌باشد[۲] و همین‌طور مصرف دراز مدت گیاه سنبل‌الطیب نیز می‌تواند عوارض کبدی به همراه داشته باشد و مشکل بیماران را حادتر نماید.[۱۳،۱۴]

تاکنون گزارش رسمی یا مقاله‌ای در ایران در مورد اثرات بالینی این دارو و عوارض جانبی آن در معتادین دیده نشده است و این اولین گزارش رسمی از اثرات این دارو در حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. از آن‌جا با توجه به عدم مشاهده اثر بخشی این دارو درموش سوری و سمیت احتمالی گیاه بید و سنبل‌الطیب لازم است تا اثبات اثربخشی و ایمنی فرآورده در حیوانات آزمایشگاهی، از مصرف آن جلوگیری به‌عمل آورده شود. هم‌چنین به علت وجود الکل و اثر آن بر افزایش غیرطبیعی علامت پرش و اختلال در کاهش علایم سندرم، پیشنهاد می‌شود از ترکیب الکل در این دارو استفاده نگردد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکترای عمومی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز با شماره ثبت ۲۳۱ می‌باشد و بدین‌وسیله از همکاری دکتر پنجه شاهین و دکتر نیک نهاد ریاست محترم دانشکده داروسازی شیراز تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

References

1. Kluza J, Baldeyou B, Colson P, et al. Cytotoxicity and DNA binding properties of the plant alkaloid burasaine. Eur J Pharm Sci 2003; 20(4-5): 383-91.
2. Azadbakht M. [Classification of Medicinal Plants.] Persian. Shiraz: Teimorzade Publication; 1998: 95-212.
3. Brunton L, Hardman JG, Limbird LE. Goodman & Gilman's the pharmacologic basis of

Archive of SID
www.SID.ir

therapeutics. 10th ed. New York: McGraw Hill Publication; 2001.
4. Zargari A. [Pharmaceutical Plants]. 7th ed. Tehran: Tehran University; 1993: 72-79.
5. Hsieh MT, Su SH, Tsai HY, et al. Effects of palmetine on motor activity and the concentration of central monoamines. Jpn J Pharmacol 1993; 61(1): 1-5.
6. Leung WC, Zheng H, Huen M, et al. Anxiolytic-like action of orally administered dl-tetrahydropalmatine in elevated plus-maze. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2003; 27(5): 775-9.
7. Shabrang S. [Survey of affects Turkish Berberis on reducing symptoms of morphine withdrawal in syrian mice] Persian [dissertation]. Shiraz: Medical University; 2001.
8. Hartmann F, Poivier MF, Bourdel MC, et al. Comparis on of acetorphan with clonidine for opiate withdrawal symptoms. Am J Psychiatry 1991; 143(5): 627-629.
9. Chan AY, Lai CK. Tetrahydropalmetine poisoning: Diagnoses of nine adult overdose based on toxicology screens by HPLC with diode array detection and gas–chromatography–mass spectrometry. Clin Chem 1999; 45(2): 229-236.
10. Zarrindast MR, Farzin D. Nicotine attenuates naloxone-induced jumping behaviour in morphine-dependent mice. Eur J Pharmacol 1996; 298(1): 1-6.
11. Zafar S, Aftab Ahmad M, Siddiqui T. Protective role of Delphinium denudutum (Jadwar) against morphine induced tolerance and dependence in mice. J Ethnopharmacol 2001; (78): 95-98.
12. Katzung BG, Masters SB, Trevor A. J Basic & Clinical Pharmacology. 5th ed. New York: McGraw Hill Publication; 1987: 811-826, 847-854.
13. Cohen DL, Toro YD. A case of valerian–associated hepatotoxicity. J Clin Gasrtoenter 2008; 42(8): 961-962.
14. Eadie MJ. Could valerian have been the first anticonvulsant? Epilepsia 2004; 45(11): 1338-1343.

Archive of SID

www.SID.ir

A survey of the effects of Raha® and Berberin medicine in toxic and sub toxic doses compare with Clonidine medicine on reducing symptoms of morphine withdrawal in Syrian mice

Ziba Liyaghat[1], Faegheh Bahaoddin-Beigi[2], Mohammad.J Khoshnood[3], Mojtaba Liyaghat[4]

Received: 27/Sep/2009
Accepted: 24/Jun/2010

***Background*:** Opiate withdrawal refers to the wide range of symptoms that occur after stopping or dramatically reducing opiate drugs after heavy and prolonged use. The aim of the present study was to determine the effects of *Raha* and Berberin medicine in toxic and sub toxic doses compare with Clonidine medicine on reducing symptoms of morphine withdrawal in Syrian mice.

***Materials and Method*:** 140 Syrian mice (weight range 70-90 gr) were divided randomly into 2 groups; first group; n_1=35(receiving drug =21, control=14) & second group; n_2=105 (receiving drug=91, control=14). Animals were treated by injected increasing doses of morphine sulfate for physical dependence. Then withdrawal syndrome was induced by administration of Naloxone. In order to evaluate the effect of *Raha* Berberin and Clonidine on morphine withdrawal syndrome in Syrian mice and also amount of total alkaloids and Berberin value in the *Raha*® were measured.

***Result*:** Total of average of alkaloid and Berberin value was 120, 5.72 mg, respectively in 5 ml of the *Raha*®. The rate of alcohol in *Raha*® was shown by using the USP procedure which was 19.34 percent. Toxic doses of *Raha*® and Berberin were 4, 40 mg/kg, respectively. Results indicated that, *Raha* increases significantly the percent of occurrence of ptosis and immobility were compared with control group (distilled water receiver) (p=0.016). The occurrence rate of sniffing, grooming and rearing behavior in *Raha* and Berberin treated groups compared with control group, within 15min period, was not found statistically significant (p=0.089).

***Conclusion*:** Based on our study both *Raha*® and Berberin in any dilution had no effect on reducing signs of opioid withdrawal syndrome. According to the lack of its effect in mice, further studies should be undertaken for prescription of this drug in human. [ZJRMS, 12(3):12-18]

***Keywords*:** Withdrawal symptom, morphine, Raha, berberin, clonidine

1. Pharmacologist, Shiraz, Iran.
2. Assistant Professor of Pharmacology, Shiraz University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran.
3. Assistant Professor of Toxicology, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran.
4. Veterinarian, Shiraz, Iran.

Archive of SID

www.SID.ir